

化學的處理에 의한 현사시나무의 粗飼料化 研究(I)^{*1} —Autohydrolysis—

姜鎮河^{*2}·白起鉉^{*3}·魏 燦^{*4}

Studies on the Production of Roughages from Hyun-aspen (*Populus alba* x *P. glandulosa*) by Chemical Treatments^{*1} — Autohydrolysis —

Chin Ha Kang^{*2}·Ki Hyon Paik^{*3}·Heub Wi^{*4}

SUMMARY

Roughage feeds were produced from Hyun-aspen (*Populus alba* × *P. glandulosa*) by autohydrolysis. The objectives of this work were to find proper conditions for the treatment of Hyun-aspen by analyzing the compositional change and digestibility and to determine the content of sugar and phenol contained in liquor extracted by digestion.

The results of this work were as follows:

1. The proper condition for autohydrolysis of Hyun-aspen chips were 160°C and 30 minutes in an autoclave. The yield of potential feed from original material and digestibility were 91.3% and 38.9% respectively.
2. According to cooking conditions the sugar concentration of extracted solution and the recovery rate of sugar were 0.1~2.5%, 0.3~14.6%, respectively. The phenol concentration of extracted solution and the recovery rate of phenol were 0.1~0.3, 0.5~1.8%, respectively.

1. 緒 言

最近 우리나라는 國民所得水準의 향상에 따

른 食品消費傾向의 변화로 年間 1人當 肉類消費量이 1960년에 0.5kg이었던 것이 1987년에는 15.8kg으로 大幅 增加하는 等 畜産物의 消費增

*1. 接受 1990年 1月 3日 Received January 3, 1990.

*2. 林業研究院, Forestry Research Institute, Seoul 130-012, Korea

*3. 高麗大學校 農科大學, College of Agriculture, Korea University, Seoul 136-701, Korea

*4. 全北大學校 農科大學, College of Agriculture, Chonbuk National University, Chonju 560-756, Korea

대에 따라 粗飼料의 需要量도 크게 增加되었다. 이에 따라 1987年度 粗飼料 供給量은 480萬톤에 달하여 1975年度の 90萬톤에 比하여 5倍 以上 增加하였는데 이는 主로 牧草, 山野草, 벚짚이 利用되고 있다. 牧草生産을 위하여 草地를 造成할 境遇 山地開發로 因하여 山林資源과 環境保存上의 問題가 惹起되며, 벚짚은 農地肥培管理上 논으로 되돌려져야 할 뿐더러 硅素含量이 높아 長期間 給與時 消化障碍를 誘發할 憂慮도 있다. 그리고 牧草와 벚짚은 계절적, 지역적으로 需給不均衡이 超來되기도 한다.

이로 因하여 貯藏性과 運搬性이 양호하여 安定的으로 供給할 수 있는 木質粗飼料를 製造하는 研究가 各國에서 수행되어 오고 있다. 山林에서 生産되는 바이오매스는 年間 70×10^9 톤이나, 일부만 利用되고 있으므로 炭水化合物이 65~75%로서 豊富한 木材를 粗飼料로 開發하면 粗飼料源이 多邊化될 뿐더러 林産資源의 새로운 需要도 創出될 수 있다. 그러나 木材는 牧草와 벚짚 等 草本類에 比하여 높은 리그닌 含量, 炭水化合物-리그닌結合, 셀룰로오스의 높은 重合度 및 結晶化度, 리그닌의 巨大分子性 等의 特性을 가지므로 消化率이 낮아 어떤 種類의 前處理를 하지 않으면 木材內 炭水化合物은 反芻動物의 第1胃(rumen)에 있는 微生物이 일부만 밖에 分解하지 못한다. 그러므로 木材構成成分을 分解하여 消化率을 높이기 위하여 auto-hydrolysis, 酸加水分解, 알칼리 處理, 熱解纖 및 爆碎方法 等이 研究되고 있다.

Autohydrolysis 方法은 高壓容器에 木材칩과 물만 넣고 蒸解하는 方法인데, 이때 hemicellulose의 側枝인 acetyl group, uronyl group이 遊離되어 生成된 acetic acid와 uronic acid에 의해 木質成分이 加水分解된다(Nimz, 1985; Lora and Wayman, 1980). 이 方法을 利用하

여 지금까지 木質粗飼料 製造方法이 特許로 提案되기도 하였으나 [U.S.pat. 1,496,833(1924), Ger. pat. 735,037(1943)], 지금까지는 經濟性이 없어 戰爭中에만 主로 利用되어졌다. 利用되는 樹種으로는 闊葉樹가 針葉樹보다 acetyl group이 많아 有利한데, Aspen을 160°C에서 1시간 처리결과 消化率이 52%로서 中質乾草 程度였다(Bender 等, 1970). 또한 Aspen 칩을 160~170°C에서 1.5~2시간 蒸解·粉碎하여 製造한 木質粗飼料를 乾草와 混合하여 緬羊에 給與한 結果, 乾草만 給與하였을 때보다 飼料 價値가 優秀하였다(Heaney and Bender, 1970).

本 研究는 현사시나무를 利用하여 auto-hydrolysis方法으로 粗飼料를 製造時 適正製造 條件을 究明하고, 製造할 때 抽出되는 溶液을 濃厚飼料 原料로 利用時 基礎資料가 되는 抽出 溶液內의 糖과 澱粉量을 定量하는데 目的을 두었다.

2. 材料 및 方法

2.1. 材料

2.1.1. 供試木

강원도 횡성군 서원면 유현리 所在 國有林內에서 生長이 良好한 現사시나무(*Populus alba* × *Populus glandulosa*)를 5本 選定, 伐採하여 供試木으로 하였으며 그 性狀은 table 1과 같다.

2.1.2. 칩(chip)製造

供試木을 剝皮, 製材 後 칩퍼(portable type chipper : Fuji co.)를 使用하여 2×3×0.3cm 程度 크기로 칩을 製造하고, 陰地에서 3日間 氣乾시킨 後 칩 選別機로 精選하였다.

2.1.3. 핀칩(pin chip) 製造

2.1.2.에 의하여 製造된 칩을 2日間 水沈시

Table 1. Characteristics of sample tree

Species	D.B.H.(cm)	Height(m)	Age(yr.)
<i>Populus alba</i> × <i>P. glandulosa</i>	16 14~20	16 15~17	9

킨 後 refiner(5AP disc type: Toyo Seiki)로 精碎하여 攪拌을 製造하였다. 이를 陰地에서 氣乾시켜 autohydrolysis 方法에 의한 粗飼料 製造에 使用하였다.

2.2. 實驗方法

2.2.1. 粗飼料 製造

攪拌 200 g 썩을 4ℓ 用 왕연식 蒸解釜(Toyo Seiki co.)에서 table 2와 같은 조건으로 蒸解하였다.

Table 2. Cooking conditions

Process	Temp.(°C)	Time(min.)	Water/wood ratio
Autohydrolysis	145, 160, 175	10, 30, 50	8/1

2.2.2. 粗飼料 成分分析

各種條件으로 製造한 粗飼料의 飼料價値를 究明코자 粗飼料를 Willey mill로 粉碎하고 調查項目에 따라 一定한 크기 粒子로 精選하여 成分을 分析하였다. 調查項目 및 方法은 다음과 같다.

2.2.2.1. 收率

各種條件으로 製造된 粗飼料를 氣乾시켜 다음 式에 의거 收率을 計算하였다.

$$\text{收率}(\%) = \frac{\text{粗飼料 乾物量}(g)}{\text{試料 乾物量}(g)} \times 100$$

2.2.2.2. 水分, 粗蛋白質, 粗脂肪, 粗纖維, 粗灰分, 可溶無窒素物

粉碎한 試料를 20mesh 이하로 精選하여 Weende 分析法에 의하여 分析하였다(AOAC 標準方法, 1985).

2.2.2.3. NDF, ADF, Hemicellulose, Cellulose, Lignin, Silica

粉碎試料를 20mesh 이하로 精選하여 Van Soest 方法으로 分析하였다(Goering and Van Soest, 1970).

2.2.2.4. Klason lignin

40~60mesh로 精選한 試料를 Tappi stan-

dard T 13 os-54에 의거 定量하였다.

2.2.2.5. 消化率

20~140mesh로 精選한 試料로 in Sacco 方法으로 求하였다(Mehrez and Ørskov, 1977).

2.2.3. 蒸解時 抽出되는 溶液分析

2.2.3.1. Total sugar 定量

抽出되는 溶液의 糖濃度를 spectrophotometer(shimadzu model UV-240)를 使用하여 phenol-sulfuric acid 方法으로 定量하였으며(Dubois, 1956), 糖收率은 다음 式에 의거 計

算하였다.

$$\text{糖收率}(\%) = \frac{\text{糖濃度}(\%) \times \text{抽出溶液量}(ml)}{\text{試料乾物量}(g)} \times 100$$

2.2.3.2. Phenol 定量

抽出溶液의 phenol 濃度를 spectrophotometer(shimadzu model UV-240)를 使用하여 Folin-Denis procedure에 의거 定量하였으며(Folin and Denis, 1915; Herrick 等, 1967), phenol 生成率은 다음 式에 의거 計算하였다.

$$\text{페놀收率}(\%) = \frac{\text{페놀濃度}(\%) \times \text{抽出溶液量}(ml)}{\text{試料乾物量}(g)} \times 100$$

3. 結果 및 考察

3.1. 粗飼料 製造 및 成分分析

3.1.1. 無處理

無處理木材와 벗짚을 飼料價値面에서 成分을 分析, 比較한 結果는 table 3과 같다.

현사시나무의 粗蛋白質, 粗脂肪, 粗灰分은 各 各 0.4, 0.8, 0.3%로서 벗짚의 3.3, 1.3, 8.4%보다 적어 營養價値가 낮았다.

Table 3. Proximate components, cell wall components and digestibility of untreated wood (Hyun-aspen) and rice straw

Constituents	<i>Populus alba</i> x <i>P. glandulosa</i> (%)	Rice straw (%)
Moisture	10.96	12.62
Crude protein	0.38	3.33
Crude fat	0.81	1.26
Nitrogen free extra.	35.05	45.35
Crude fiber	53.35	32.36
Crude ash	0.26	8.41
NDF (cell wall constituents)	88.95	72.68
ADF (lignocellulose)	67.26	49.26
Hemicellulose	21.69	23.42
Cellulose	53.96	35.19
Lignin	13.18	8.44
Klason lignin	17.85	14.69
Silica	0.02	5.18
Digestibility(DM)*	13.8	40.2

* Determined by *in sacco* method

NFE는 주로 可溶性糖과 澱분으로 構成되어 있으며 一部 cellulose, hemicellulose와 lignin도 包含된다. 이 NFE가 현사시나무는 35.1%이나 벗짚은 45.4%로서 높았다.

粗纖維는 현사시나무가 53.4%이나 벗짚은 32.4%이며 이들 成分은 cellulose, hemicellulose 및 lignin으로 構成되어 있다.

細胞膜 物質의 總台인 NDF는 cellulose, hemicellulose 및 lignin으로서 현사시나무에는 89.0%, 벗짚은 72.7%가 含有되어 있으므로 벗짚이 完全히 消化可能物質인 sugar, starch, protein, NPN, lipid 등의 細胞內容物이 많다.

ADF는 주로 cellulose, lignin과 silica로 構成되어 있는데, 현사시나무는 67.3%이고 벗짚은 49.3%이었다. Hemicellulose는 cellulose나 lignin보다 分子量이 적어 消化가 比較의 容易한 物質인데 현사시나무는 21.7%이었고 벗짚은 23.4%이었다.

현사시나무의 cellulose, lignin 및 Klason lignin은 各各 54.0, 13.2, 17.9%로서 벗짚의 35.2, 8.4, 14.7%보다 높았다. 즉 飼料로 利用可能한 cellulose 含量은 木材가 높으나 反對

로 消化障礙因子인 lignin 含量이 높아 벗짚보다 消化率이 낮은 要因中の 하나이다. Silica는 벗짚이 5.2%인 反面 현사시나무는 0.02%로서 극히 少量이었다. 특히 벗짚의 높은 silica 含量은 벗짚 粗飼料의 問題點이기도 하다.

消化率은 현사시나무가 13.8%로서 벗짚의 40.2%보다 크게 낮았다. 이는 현사시나무가 벗짚보다 消化障礙因子인 lignin 含量이 높고, 比較的 消化가 容易한 hemicellulose 含量이 적을뿐 아니라 sugar, starch, protein, lipid 등 完全히 消化可能한 細胞內容物이 적은데 起因하는 것으로 思料된다. 또한 현사시나무는 벗짚보다 蛋白質과 脂肪成分도 적어 營養價値面에서 質이 떨어진다. 이에 따라 木質資源을 飼料化하기 위해서는 各種 處理가 必要하게 된다.

3.1.2. Autohydrolysis

Autohydrolysis方法으로 粗飼料를 製造하고 成分을 分析한 結果는 다음과 같다.

3.1.2.1. 收率

粗飼料 製造時 收率은 處理溫度와 時間에 따라 fig. 1과 같이 99.0%에서 69.1%까지 크게

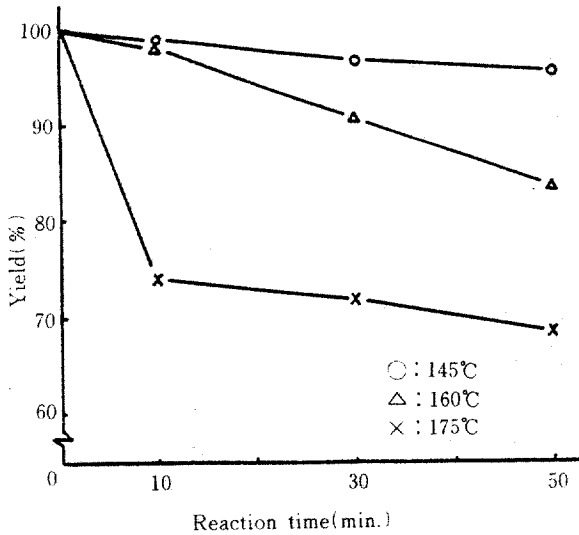


Fig 1. Yield of feedstuffs manufactured by autohydrolysis from Hyun-aspen.

減少하는 傾向이었다.

處理溫度別로 處理時間에 따른 變化를 살펴 보면, 145°C에서는 時間延長에 따른 收率減少가 微微하여 30分 以上에서는 거의 變化가 없었다. 160°C에서는 時間을 20分씩 增加시킴에 따라 6~7%씩 減少하였고, 175°C에서는 10分까지는 급격하나 그 이후부터는 時間延長에 따라 3% 程度씩 差異가 있었다.

時間別로 溫度에 따른 變化를 살펴보면 10, 30分間 處理時에는 160°C에서 175°C로 上昇시켰을 때 急激히 減少하였으나, 50分間 處理時에는 溫度上昇에 따라 13~14%씩 같은 程度로 減少하였다. 結果的으로 autohydrolysis反應은 hemicellulose의 熱軟化溫度인 170°C 以上에서 크게 일어난다고 볼 수 있다.

Table 4. Proximate components, cell wall components and digestibility of roughages manufactured by autohydrolysis from Hyun-aspen

Constituents(%)	Temp.(°C)	145			160			175		
	Time(min.)	10	30	50	10	30	50	10	30	50
Moisture		8.03	8.01	7.51	7.88	8.00	8.14	6.19	6.20	5.85
Crude protein		0.40	0.36	0.36	0.51	0.46	0.47	0.41	0.42	0.41
Crude fat		0.80	0.73	0.62	0.15	0.24	0.21	0.16	0.19	0.14
Nitrogen free extra.		35.88	37.13	40.65	33.05	33.18	33.05	36.49	37.28	39.97
Crude fiber		55.43	54.29	51.29	58.33	58.13	58.17	56.77	55.98	53.62
Crude ash		0.26	0.21	0.19	0.23	0.23	0.17	0.14	0.12	0.15
NDF (cell wall constituents)		88.97	88.33	88.42	88.65	87.66	86.05	87.76	85.68	85.64
ADF (lignocellulose)		68.54	68.55	68.74	69.64	72.59	74.26	81.87	82.96	83.94
Hemicellulose		20.43	19.78	19.68	19.01	15.07	11.79	5.89	2.72	1.70
		(20.2)	(19.1)	(19.0)	(18.6)	(13.8)	(9.86)	(4.38)	(1.95)	(1.17)
Cellulose		57.89	59.41	62.78	59.21	63.03	65.50	70.06	70.56	72.02
		(57.3)	(57.5)	(60.5)	(58.0)	(57.6)	(54.8)	(52.1)	(50.7)	(49.8)
Lignin		8.70	8.02	5.32	9.49	8.46	8.71	11.21	11.67	11.29
		(8.62)	(7.76)	(5.12)	(9.29)	(7.73)	(7.28)	(8.33)	(8.38)	(7.80)
Klason lignin		17.47	17.69	17.19	17.52	17.64	17.98	17.30	17.13	15.93
		(17.3)	(17.1)	(16.6)	(17.2)	(16.1)	(15.0)	(12.9)	(12.3)	(11.0)
Silica		0.09	0.08	0.05	0.02	0.02	0.02	0.04	0.02	0.08
Digestibility(DM)*		17.7	26.4	30.8	23.7	38.9	40.4	36.9	28.0	23.0

* Determined by *in sacco* method

() : Based on original sample

3.1.2.2. 粗飼料의 成分分析

粗飼料의 成分을 分析한 結果는 table 4와 같다.

粗蛋白質, 粗脂肪, 粗灰分은 모두 1% 未滿이었는데, 특히 粗脂肪은 溫度上昇으로 脂肪의 一部가 溶解되어 減少幅이 컸다.

粗纖維는 無處理時 53.4%이었으나 處理溫度과 時間에 따라 51.3~58.3%로 變하였다. 處理溫度上昇에 따른 變化를 살펴보면 160℃ 處理時 58% 程度로서 가장 높았는데, 이는 160℃에서 細胞內 可溶性物質만 溶出되고 細胞壁物質의 分解가 적었던데 起因하는 것으로 思料된다. 處理時間이 延長됨에 따라서는 모든 溫度에서 減少하였는데, 이는 構成成分의 分解程度가 增大된데 起因하는 것으로 思料된다. 이와 反對로 NFE는 處理溫度과 時間이 增加함에 따라 增加하는 傾向이었다.

NDF는 溫度과 時間이 增加함에 따라 89.0%에서 85.6%까지 減少하였는데, 이는 木質成分의 分解로 neutral detergent solution에서의 抽出量이 增加한데 起因하는 것으로 思料된다. ADF는 68.5%에서 83.9%까지 增加하였는데, 이는 hemicellulose가 處理溫度과 時間의 增加에 따라 20.2%에서 1.2%까지 cellulose와 lignin보다 크게 減少한데 起因한 것으로 思料된다.

Cellulose는 處理溫度과 時間이 增加함에 따라 60.5%에서 49.8%까지, lignin은 9.3%에서 5.1%까지 減少하였는데, 이는 cellulose와 lignin도 反應時 一部 分解된 結果이다. Silica는 消化障礙 要因인데, 0.1% 未滿으로서 芻料의 5.2%보다 크게 적어 이는 芻料에 대한 木質粗飼料의 長點이라 할 수 있다.

Klason lignin은 無處理時 17.9%이었으나 175℃에서 處理한 結果 11.0~12.9%로서 相當히 減少하였는데, 다른 處理溫度에서는 減少정도가 적었다. 이에따라 分解程度를 比較해보면 cellulose보다 크고, hemicellulose보다는 적은 것으로 나타났다.

消化率은 無處理時 13.8%이었으나, 處理條件에 따라 17.7%에서 40.4%까지 增加하였는데, 160℃에서 50분간 處理時가 가장 높아 芻料과 같은 수준이었다. 이 結果는 Bender 등(1970)이 Aspen 칩을 160℃에서 1時間 蒸解하여 얻은 消化率 52%보다는 낮았으나, Bender 등(1973)이 Aspen 톱밥을 130psi에서 30分間 蒸解하였을 때의 消化率 45%와는 비슷하였다. 處理溫度別로 變化를 살펴보면 145℃와 160℃인 境遇에는 時間이 延長됨에 따라 消化率이 增加하나 175℃로 處理時에는 時間이 延長됨에 따라 오히려 減少하였다. 處理時間別로 變化를 살펴보면, 10分間 處理時에는 溫度上昇과 함께 增加되었다. 한편 30, 50分間 處理時에는 溫度가 145℃에서 160℃로 上昇됨에 따라 增大되나, 160℃에서 175℃로 上昇시켰을 때는 減少하였다. 結局 處理溫度과 時間이 어느 水準以上으로 增加되면 消化率이 오히려 減少하였다. 이는 溫度과 時間이 增加됨에 따라 木材 自體의 acetyl group과 물이 反應하여 生成된 醋酸의 作用으로 cellulose, hemicellulose 및 lignin이 低分子化되어(Lora and Wayman, 1980; Nimz, 1985) 炭水化合物이 消化可能狀態로 變化되나, 消化되기 쉬운 hemicellulose量이 크게 減少하고 lignin과 炭水化合物이 再結合하여(Lora and Wayman, 1980) 반추위內에서 纖維素를 分解하는 微生物과의 反應성이 低下된데 起因하는 것으로 思料된다. 以上の 結果에서 消化率과 收率을 감안하여 볼 때 autohydrolysis方法에 의한 粗飼料製造 適正條件은 160℃에서 30分間 處理였는데, 이때 消化率은 38.9%, 收率은 91.3%이었다.

3.1.2.3. 蒸解時 抽出되는 廢液에 溶解된 糖과 醱농量

蒸解하여 粗飼料를 製造時 나오는 廢液에 含有된 糖은 回收하여 糖蜜을 製造(Turner, 1964)하거나 單細胞蛋白質을 生産(Harris 등, 1948; Wiley 등, 1951)할 수 있다. 또한 糖이 含有된 이 廢液을 木質粗飼料에 添加하여 動物

에 給與하면 消化率도 增加되고 粗飼料의 營養 價値도 向上된다(Archibald, 1926)는 報告도 있다.

結局 蒸解時 抽出되는 廢液은 利用度가 높으 므로 이 溶液內에 含有되어 있는 糖의 濃度 및 回收될 수 있는 糖收率을 求한 結果는 fig. 2, 3 과 같다.

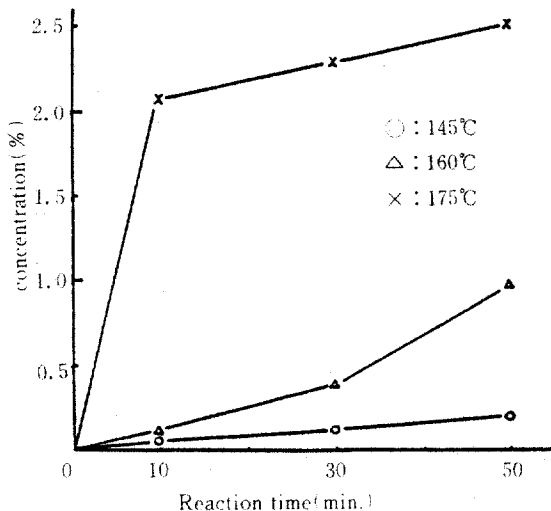


Fig. 2 Sugar concentration in spent liquor extracted in manufacturing roughages by autohydrolysis from Hyun-aspen.

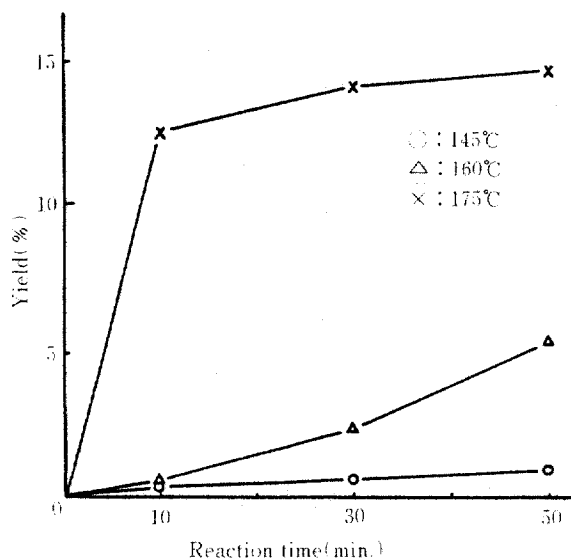


Fig. 3 Sugar yield in spent liquor extracted in manufacturing roughages by autohydrolysis from Hyun-aspen.

糖濃度는 處理條件에 따라 0.1에서 2.5%까지 增加하였다. 溫度上昇에 따른 變化를 살펴 보면 145°C에서 糖濃度가 0.1~0.2%, 160°C에서는 0.1~1.0%이었으나, 175°C에서는 2.2~2.5%로서 溫度가 160°C에서 175°C로 上昇時 糖濃度가 크게 增大되었다. 이는 木材內 炭水化合物 특히 hemicellulose의 分解가 170°C 以上에서 크게 일어난다는 Goring(1963)의 報告와 같은 傾向이었다. 糖收率은 糖濃도와 같은 傾向으로 0.3%에서 14.6%까지 增加하였다.

溫度와 時間이 延長됨에 따라 lignin, 色素 등 polyphenol 系統의 物質이 溶出되므로 廢液內 페놀濃度가 增加하게 되는데 fig. 4와 같이 處理條件에 따라 0.1%에서 0.3%까지 增加하였다.

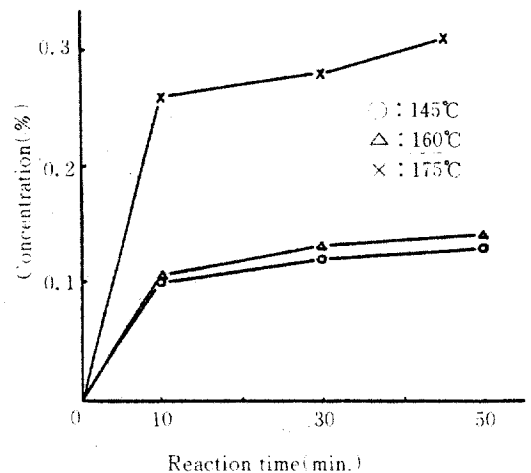


Fig. 4 Phenol concentration in spent liquor extracted in manufacturing roughages by autohydrolysis from Hyun-aspen.

處理溫度에 따른 變化를 살펴보면 145°C에서 160°C로 上昇되었을 때보다 160°C에서 175°C로 上昇시켰을 때가 糖濃도와 같이 增加幅이 컸으나, 處理時間의 增加에 의한 效果는 微微하였다. 이는 溫度가 높을 때 炭水化合物 뿐만 아니라 lignin의 加水分解反應도 促進된 것에 起因하는 것으로 思料된다. 收率은 fig. 5와 같이 濃도와 같은 傾向으로 0.5%에서 1.8%까지 增加되었다.

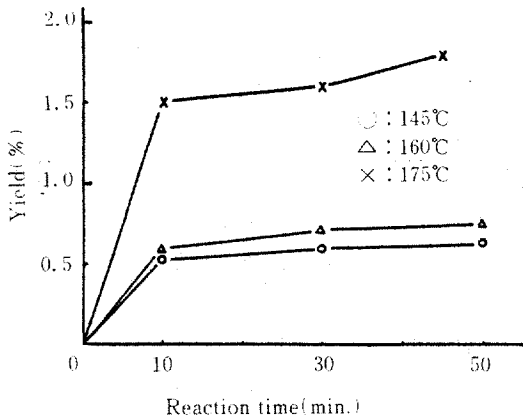


Fig. 5 Phenol yield in spent liquor extracted in manufacturing roughages by autohydrolysis from Hyun-aspen.

4. 結 論

현사시나무를 autohydrolysis 방법으로 처리하여 반추동물용 粗飼料를 製造하고 成分을 分析하여 適正製造條件을 究明함과 同時에, 蒸解時 抽出되는 溶液中的 糖 및 페놀을 定量한 結果는 다음과 같다.

1. 粗飼料를 製造時 適正條件은 160°C에서 30分間 處理였다. 이때 收率은 91.3%, 消化率은 38.9%이다.

2. 蒸解條件에 따라 抽出溶液의 糖濃度는 0.1~2.5%, 糖收率은 0.3~14.6%였으며, 페놀濃度는 0.1~0.3%, 페놀收率은 0.5~1.8%이었다.

參 考 文 獻

1. AOAC. Official Methods of Analysis (14th ed.). Association of Official Agricultural Chemists. Washington, D.C. (1985).
2. Archibald, J.G.: The composition, digestibility and feeding value of hydrolyzed sawdust. J. Dairy Sci., 9, 257-271 (1926).
3. Bender, F. and D.P. Heaney: Potential of steamed wood as a feed for ruminants.

For. Prod. J., 20(4), 36-41 (1970).

4. Bender, F. and D.P. Heaney: Method of converting broadleaved wood or bagasse into nutritious fodder and the nutritious fodder so produced. can. pat. No. 93 3028. Sep. 4 (1973).
5. Dubois, M., K.A. Gilles and J.K. Hamilton: Colorimetric method for determination of sugars and related substance. Ana. Chem., 28(3), 350-356 (1956).
6. Folin, O. and W. Denis: A colorimetric method for the determination of phenols and phenol derivatives. Jour. of Biol. Chem., 22(22), 305-309 (1915).
7. Goering, H.K. and P.J. Van Soest: Forage fiber analyses (apparatus, reagents, procedures and some application). Agric. Handbook 379, USDA, Washington D.C. (1970).
8. Goring, D.A.I.: Thermal softening of lignin, hemicellulose and cellulose. Pulp and Pap. Mag. Can., 64, T517-T527 (1963).
9. Harris, E.E., M.L. Hannan and R.R. Marquardt: Production of food yeast from wood hydrolyzates. Ind. and Eng. Chem., 40(11), 2068-2072 (1948).
10. Heaney, D.P. and F. Bender: The feeding value of steamed aspen for sheep. For. Prod. J., 20(9), 98-102 (1970).
11. Herrick, I.H., M.F. Adams and E.M. Hufaker: Process of refining arabinogalactan containing compositions and product produced thereby. U.S. Patent, No. 3,325,473 (1967).
12. Lora, J.H. and M. Waymann: Autohydrolysis of aspen milled wood lignin. Can. J. Chem., 58, 669-676 (1980).
13. Mehrez, A.Z. and E.R. Ørskov: A Study of the artificial fiber bag technique for

- determining the digestibility of feeds in the rumen. *J. Agri. Sci. Camb.*, 88, 645-650 (1977).
14. Nimz, H.H. and R. Casten; Organosolv pulping with acetic acid. Proceedings of international symp. on wood and pulping chemistry, 265-266 (1985).
15. Nimz, H.H. and D. Robert; ^{13}C NMR spectra of acetic acid lignins. Proceedings of International symp. on wood and pulping chemistry, 267 (1985).
16. Turner, H.D.; Feed molasses from the masonite process. *For. Prod. J.*, 14(7), 282-284 (1964).
17. Wiley, A.J., J.M. Horderby and L.P. Hughes; Food yeast from sulfite liquor. *Ind. and Eng. Chem.*, 43(8), 1702-1711 (1951).